



## 产品说明书

**OriCell™ C57BL/6小鼠神经干细胞**

货号: MUBNF-01001

## 目录

产品基本信息.....	1
产品介绍.....	1
产品特性.....	1
产品应用.....	2
处理原则.....	2
OriCell™ C57BL/6 小鼠神经干细胞的复苏和培养（神经球的培养）.....	2
OriCell™ C57BL/6 小鼠神经干细胞的传代.....	4
OriCell™ C57BL/6 小鼠神经干细胞的分化.....	5
OriCell™ 神经干细胞无蛋白非程序冻存液冻存神经干细胞.....	7
相关产品.....	7
参考文献.....	7

## 产品基本信息

产品名称	C57BL/6小鼠神经干细胞
货号	MUBNF-01001
规格	1×10 <sup>6</sup> 个细胞/管
冻存代次	P2
保存条件	液氮



**警告：**产品冻存液中含有DMSO，具有潜在的生物公害，操作者请谨慎处理。

## 产品介绍

神经干细胞是多能干细胞，可以分化为神经系统的多种细胞，包括神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞等等。神经干细胞可以从成年哺乳动物大脑的不同区域和脊髓等神经系统中分离出来。神经干细胞有重建神经环路的能力，因此具有治疗脑组织损伤的潜能，从而在神经退行性疾病动物模型、遗传性中枢神经系统疾病、中风和脊髓损伤等方面有着广泛的研究。

Cyagen C57BL/6小鼠神经干细胞来源于12.5天C57BL/6小鼠的大脑组织，以悬浮的神经球形式培养，在第二代冻存。

质量控制：

- 本产品经过了细菌/真菌，支原体，内毒素检测。
- 本产品还经过细胞复苏活力检测，细胞周期，细胞传代能力，分化潜能鉴定。

该产品仅提供给进一步科研使用，不可应用于临床治疗等其他方面。

## 产品特性

- 操作规范条件下，本产品有良好的传代能力，至少能传3代。
- 本产品有良好的分化潜能，能向神经元、少突胶质细胞、星形胶质细胞分

化。

- 表达 Nestin (> 75%)，不表达GFAP, Tubulin (< 10%)。

## 产品应用

神经干细胞被广泛地应用于发育生物学和大脑损伤治疗的研究。神经干细胞具有迁移和向脑细胞分化的能力，在神经系统病变、遗传性神经系统疾病、中风和脊髓损伤等方面具有治疗潜能。。

## 处理原则



1. 要在无菌的条件下处理该产品。

**注意:** C57BL/6小鼠神经干细胞能被冻存或复苏至少一次。

2. 我们建议一般细胞接种密度是  $1.0-2.0 \times 10^5$  cells/mL，具体数量请根据细胞状态加以调整。
3. 我们强烈建议用于科研的细胞代次不超过8代。
4. 当神经球中央出现暗区，或者神经球边缘不光滑时，神经球必须传代。



**注意:** 我们强烈建议使用OriCell™ 培养基和其他相关试剂以达到最理想的培养效果。

## OriCell™ C57BL/6 小鼠神经干细胞的复苏和培养（神经球的培养）

### 所需材料

- OriCell™ C57BL/6小鼠神经干细胞（货号：MUBNF-01001）
- OriCell™ 神经干细胞完全培养基（货号：GUXNX-90011）

### C57BL/6小鼠神经干细胞的复苏和培养

1. 准备好37°C水浴。
2. 准备好C57BL/6小鼠神经干细胞完全培养基，温育到37°C。
3. 在15 mL离心管中加入9 mL的C57BL/6小鼠神经干细胞完全培养基。

4. 从液氮罐中取出一管OriCell™ C57BL/6小鼠神经干细胞，立即放入-80℃冰箱（目的是让进入冻存管的液氮稍加挥发）。
5. 在-80℃放置 2-3 min 后，取出冻存细胞，将冻存管迅速放入 37℃温水中，快速晃动使管中内含物尽快融化。仔细观察，待冻存管内含物完全融化后取出。



**注意:**

- ① 尽可能避免水没过管帽，以减少污染的风险。
  - ② 要快速完成细胞复苏过程，融化过程时间过长，会造成复苏后的细胞活性较差。
6. 用 70%-75%酒精消毒冻存管口的外壁。
  7. 在超净台中打开冻存管，用吸管将细胞冻存悬液移入装有 9 mL C57BL/6 小鼠神经干细胞完全培养基的 15 mL 离心管中。在这一过程请尽可能避免产生气泡。
  8. 为减少细胞的损失，用 1 mL 培养基再次冲洗冻存管，稍加吹打后收集细胞。
  9. 细胞悬液经 250 g（对应于 Eppendorf 5810R 离心机是 1134 rpm）离心 5 min。
  10. 去除上清液。
  11. 向细胞沉淀物加入 1 mL 的 C57BL/6 小鼠神经干细胞完全培养基（已预热到 37℃），轻轻吹打匀，尽量避免产生气泡。
  12. 将细胞按  $1.0-2.0 \times 10^5$  cells/mL 的密度接种到培养器皿中，加入足量的完全培养基。轻轻摇晃细胞培养器皿，使细胞均匀分布。
  13. 放入 37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养。
  14. 复苏后的第二天，给复苏的细胞换用新鲜的 C57BL/6 小鼠神经干细胞完全培养基（已预热到 37℃）。

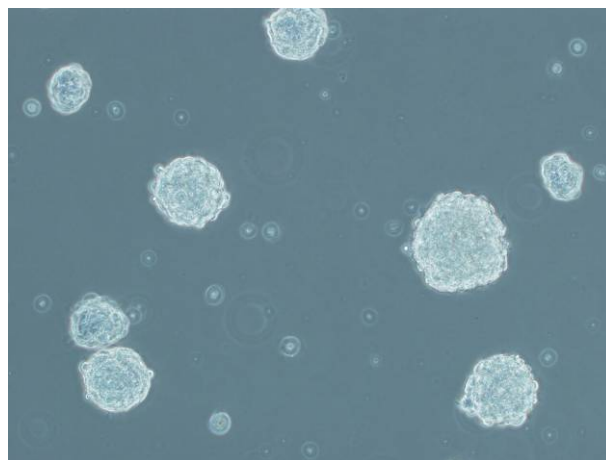


图1 培养中的C57BL/6小鼠神经干细胞

## 换液操作



**注意：**为避免反复温热培养基，如果在一次操作中无法用完整瓶培养基，建议分装到适当的无菌容器中。换液时只取当天所需培养基量进行预热。

1. 镜下观察细胞，如果有细胞出现贴壁，尽量不要拍打培养器皿底壁以免其脱壁。
2. 用巴斯德吸管将神经球悬液转移至离心管中。
3. **降低离心力为140 g**，将神经球悬液离心4 min后，去除上清液。
4. 向细胞沉淀物加入1 mL 神经干细胞完全培养基，轻轻重悬细胞，注意不要将小神经球吹散。
5. 将细胞悬液移入一个新的培养器皿中。
6. 加足量的培养液，在37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养。
7. 之后，视培养液情况和细胞的生长情况，予以换液或传代。一般隔天换液。

## 传代时机判断

当神经干细胞出现神经球较大（神经球中央的细胞生长状态不好）或部分神经球出现贴壁分化时需立即传代。一般情况下，C57BL/6小鼠神经干细胞2-3天进行传代。

## OriCell™ C57BL/6 小鼠神经干细胞的传代

### 所需材料

- OriCell™ C57BL/6小鼠神经干细胞（货号：MUBNF-01001）
- OriCell™ C57BL/6小鼠神经干细胞完全培养基（货号：MUBNF-90011）

### 传代



**注意：**传代前24 h给细胞更换新鲜的培养基。

1. 将 C57BL/6 小鼠神经干细胞完全培养基预热到 37°C。
2. 镜下观察细胞，如果有细胞出现贴壁，尽量不要拍打培养器皿底壁以免其脱壁。
3. 用巴斯德吸管将神经球悬液转移至离心管。
4. **降低离心力为 140 g**，将神经球悬液离心 4 min 后，去除上清液。
5. 向细胞沉淀物加入 1 mL 神经干细胞完全培养基重悬细胞，将细胞悬液转移至 5 mL EP 管中，用 1 mL 枪头吹打 10-20 次，镜下观察见多数细胞是单个或两三个一

团时，表明消化的效果良好。（细胞量较多时可以将细胞悬液平均分到 2-3 个 EP 管中再吹打）。



**注意:**吹打时，请注意吹打的力度。

6. 使 EP 管竖直稍微静置。
7. 收集细胞，接种到 T25 培养瓶，轻轻吹打混匀，加入足量神经干细胞完全培养基，调整接种密度为  $1.0-2.0 \times 10^5$  cells/mL。



**注意:**不要吸到 EP 管管底的细胞团，这部分细胞不建议使用。

8. 在 37°C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养。
9. 传代之后的第二天，给传代的换用新鲜的神经干细胞完全培养基（已预热到 37°C）。
10. 之后，视培养液情况和细胞的生长情况，予以换液或传代。一般隔天换液。

## OriCell™ C57BL/6 小鼠神经干细胞的分化

神经干细胞在含 EGF 和 FGF2 的无血清培养基中培养，去除分裂原后，神经干细胞会自发向神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞分化。除了自发分化，神经干细胞可在特定培养条件下向所诱导方向分化。神经干细胞在含血清培养基中培养大概 7 天，会自发分化为神经元细胞（ $16 \pm 7\%$ ）、星形胶质细胞（ $75 \pm 7\%$ ）、少突胶质细胞（ $5 \pm 3\%$ ）。

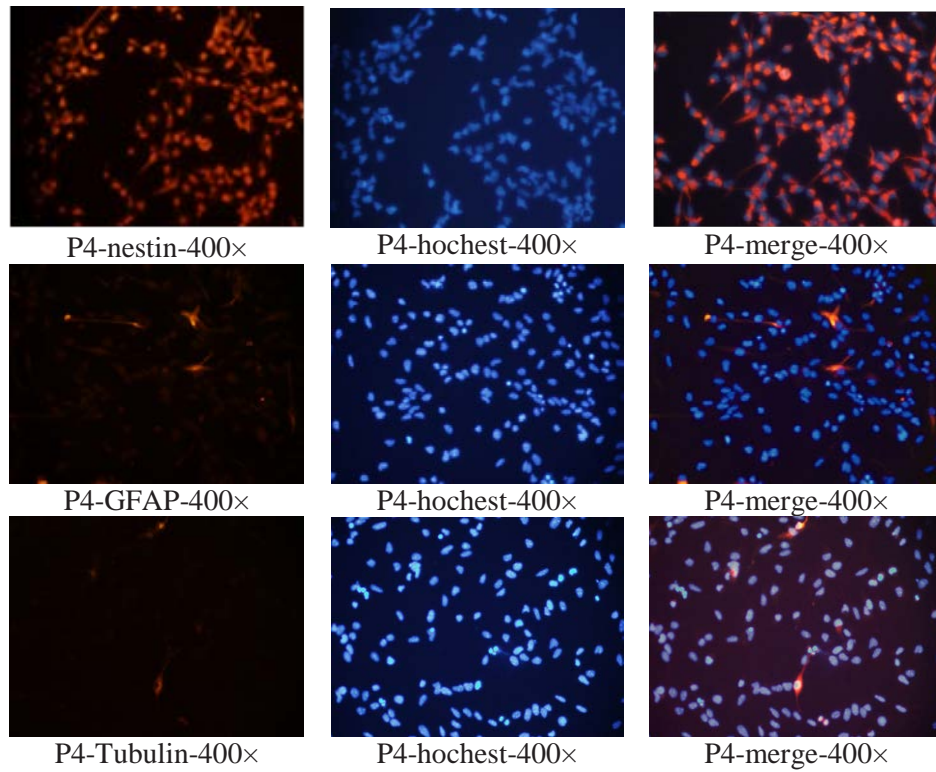


图2 神经干细胞免疫荧光图片（400×）

神经干细胞特异蛋白nestin（红色），星形胶质细胞特异蛋白GFAP（阴性），  
神经元特异性蛋白Tubulin（阴性），hochest（蓝色）

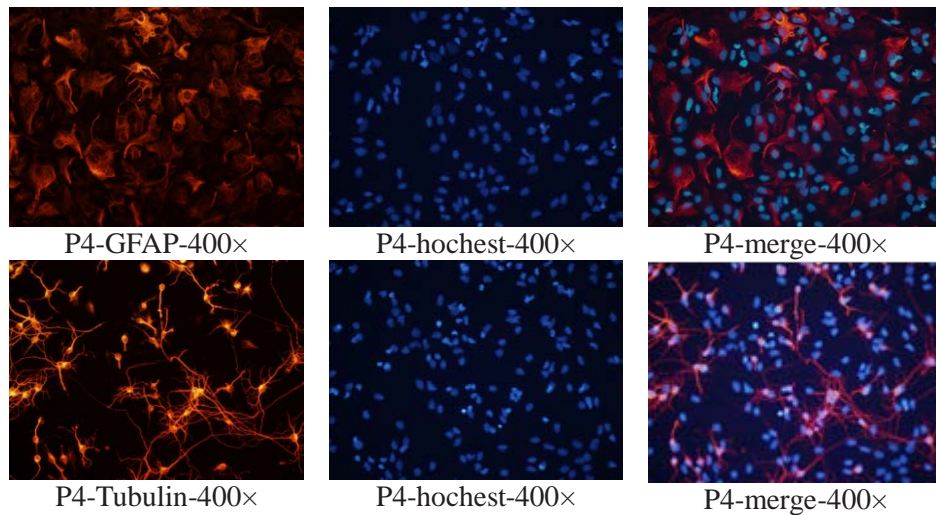


图3 神经干细胞诱导分化免疫荧光图片（400×）

星形胶质细胞特异性蛋白 GFAP（红色），神经元特异性蛋白Tubulin（红色）。



## OriCell™ 神经干细胞无蛋白非程序冻存液冻存神经干细胞

### 所需材料

OriCell™ 神经干细胞无蛋白非程序冻存液（货号：GUXNX-07021）

OriCell™ 神经干细胞无蛋白非程序冻存液是专用于神经干细胞的无蛋白冻存液，是一种化学成本明确的即用型冻存液，可直接放入-80℃冰箱冻存，不需要分步慢冻。

### 冻存：



**注意：**选择对数生长期的细胞进行冻存。冻存前**24 h**给细胞更换新鲜的培养基。

1. 细胞的收集请参考 OriCell™ C57BL/6 小鼠神经干细胞的传代操作中 1-5 步骤。
2. 细胞收集后，取少量细胞悬液用血细胞计数板计数，计算细胞总数。
3. 细胞悬液经 250 g 离心 5 min 后，吸去上清液。
4. 用神经干细胞无蛋白非程序冻存液重悬细胞，调整细胞密度为  $1 \times 10^6$  个活细胞/mL（或希望达到的细胞密度）。



**注意：**OriCell™ 神经干细胞无蛋白非程序冻存液在使用前需保持 4℃。

5. 把细胞分装到冻存管（需提前做好标记或贴上标签）中，旋紧冻存管盖。
6. 将冻存管直接放进-80℃冰箱。24 小时后将细胞转移到液氮进行长期保存。



**注意：**如使用程序冻存液，需将冻存管放入程序降温盒后方可放入-80℃冰箱。

### 相关产品

产品名称	产品货号
OriCell™ C57BL/6 小鼠神经干细胞完全培养基	MUBNF-90011
OriCell™ 小鼠神经干细胞成神经元诱导分化培养基	MUXNX-90081
OriCell™ 小鼠神经干细胞成星形胶质细胞诱导分化培养基	MUXNX-90091

### 参考文献

Sally, Temple. (2001) The development of neural stem cells. Nature 414: 112-117.

Nigel L. Kennea, and Huseyin Mehmet. (2002) Neural stem cells. *The Journal of Pathology* 197: 536-550.

Rossella Galli, Angela Gritti, and Luca Bonfanti. (2003) Neural Stem Cells. *Circulation Research* 92: 598-608.

**Cyagen Biosciences**保留OriCell™细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有**Cyagen Biosciences**的书面许可，本文件的任何部分不得改编或转载用作其他商业用途。